

【目的】 iPS 細胞由来心筋細胞を用いた心筋組織による重症心不全に対する心筋再生治療が行われようとしているが、その有効性をあげるためには、心筋組織内の心筋細胞のバイアビリティーを向上させ、移植心筋組織の機能を向上させる必要がある。これまで、心筋組織において、細胞外マトリックス (Extracellular Matrix: ECM) であるラミニン 221 は心筋細胞の成熟の足場となるだけでなく、インテグリン $\alpha 7$ を介した刺激を心筋細胞に与え、成熟・生存を促進することが報告されている。本研究では、ラミニン 221 を用いて心筋細胞と特異的に結合し、心筋細胞の活性を向上させるような人工 ECM を作製し、心筋組織に付加することで高機能な iPS 細胞由来心筋組織を開発することを目的としている。

【方法】 ラミニン221が心筋細胞に与える影響については、ラミニン221を加えて培養した心筋細胞を用いて、モーションアナライザーによる収縮弛緩機能の評価、ミトコンドリア機能の評価、低酸素ストレスに対する耐性、免疫染色の評価、心筋関連・ミトコンドリア関連遺伝子の発現についてRT-PCRで検討した。また、人工細胞外マトリックスを付加した心筋組織の機能の評価については、人工細胞外マトリックス付き高機能心筋組織を免疫不全ラットの梗塞心に移植する。心機能評価を心エコー検査で評価を行った。

【結果】 ラミニン 221 を加えて、心筋細胞を培養した群においてはモーションアナライザーにて iPS 由来心筋細胞の収縮速度、拡張速度有意な増加を認めた。またミトコンドリア機能テストにおいては最大呼吸量の有意な増加を認めた。また、低酸素条件下における生存細胞数や細胞障害性の評価においてもそれぞれ有意に低酸素条件に耐性を持つことが示された。また RT-PCR においては成熟心筋を示唆する構造遺伝子の発現増加、その他カルシウムチャンネル関連遺伝子、ミトコンドリア増殖関連遺伝子の発現増加を認めた。一方で、ラミニン 221 を用いた人工的 ECM はフィブリンにラミニン 221 を加えることで作製しその中に iPS 由来心筋細胞を加え、人工的 ECM 付加 iPS 由来心筋組織を作製した。8 週齢のヌードラットの心臓前下行枝を結紮し心筋梗塞モデルを作製、10 週齢時に作製した iPS 由来心筋組織を移植した。人工的 ECM 付加 iPS 由来心筋組織を移植群は、コントロール群である、フィブリン移植群に比べて有意に左室駆出率の改善を認め、また人工的 ECM を付加しない iPS 由来心筋組織のみを移植した群に比べて左室駆出率の改善が良い傾向を認めた。ラミニン 221 は iPS 由来心筋細胞の機能成熟を向上しうることを示唆し、またフィブリンを用いた ECM 付加 3 次元心筋組織をヌードラット心筋梗塞モデルに移植することでその心機能を向上させ得る可能性が示唆された。

心不全に対する人工細胞外マトリックスを用いた心筋細胞移植

